

УДК: 616.345-006:611.8-001.28

ЯНГИ КОЛХИЦИН ҲОСИЛАЛИ К-26 ВА К-26-Внинг ЎСМАГА ҚАРШИ ФАОЛЛИГИНИ ТАКСОЛ, ЭТОПОЗИД ҲАМДА ДЭКОВИН ВА К-19 ПРЕПАРАТЛАР ФАОЛЛИГИГА СОЛИШТИРИШ

Агзамова Нигора Алимухамедовна,

илмий ходим;

Еникеева Зульфия Махмудовна,

биология фанлари доктори, профессор, бош илмий ходим;

Ибрагимов Адил Аҳмедович,

биология фанлари номзоди, катта илмий ходим;

Абдирова Арзайим Чаржановна,

биология фанлари номзоди, катта илмий ходим;

Амонов Анвар Илҳомович,

кичик илмий ходим;

Саидходжаева Саида Саидакбаровна,

кичик илмий ходим;

Тилляшайхов Мирзагалиб Нигматович,

тиббиёт фанлари доктори, профессор, грант раҳбари, директор

Республика ихтисослаштирилган онкология ва радиология илмий-амалий тиббиёт маркази

Аннотация. Янги К-26 ва К-26-в дори воситалари колхицин алкалоиди ҳосиласидан яратилган бўлиб, унинг хавфли ўсмага қарши фаоллиги ҳайвон ўсма штаммларида таксол, винкристин, этопозид, шунингдек, аввал кашф этилган колхицин ва колхамин ҳосилали К-19 ва дэковин дори воситаларига таққослаштирилган ҳолда ўрганилди. Тажриба 60 та зотсиз сичқон – Саркома 180 ва Эрлиха (СОЭ) ўсма штаммида ва 32 та зотсиз каламуш – Уокер Карциносаркома (КСУ) ўсма штаммида ўтказилган. Барча дори воситалари ўсма юқтирилгандан сўнг сичқонларга 10-чи кун ва каламушларда 3-чи кун мушак остига терапевтик дозада 8 маротаба қўлланилган. Олинган натижаларни баҳолаш учун стандарт критериядан фойдаланилди. Тажрибада олинган натижаларга кўра, К-26 ва К-26-в дори воситаси ўсма юқтирилган ҳайвонларда таксол, винкристин ва этопозидга нисбатан юқори фаолликни намоён қилди. Аммо ушбу дори воситаси К-19 ва дэковин таъсирига нисбатан 4-10% га камроқ натижани кўрсатди, шунга қарамай лейкоцитлар сонининг камайишини секинлаштиради. Кичик даражадаги эффект К-19 ва дэковинга нисбатан солиштирилганда К-26 дори воситаси юқори КОЕс индукция қобилиятига эгаллигини англатади.

Таянч тушунчалар: сичқон ва каламушларда трансплантация қилинадиган ўсмалар, Саркома 180, Эрлиха ўсмаси, Уокер карциносаркомаси, колхицин ҳосилали К-26-в, К-26, дэковин, К-19, фаоллик, таксол, этопозид.

СРАВНЕНИЕ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ КОЛХИЦИНА К-26 И К-26-В С АКТИВНОСТЬЮ ТАКСОЛА И ЭТОПОЗИДА, А ТАКЖЕ С ПРЕПАРАТАМИ ДЭКОВИНОМ И К-19

Агзамова Нигора Алимухамедовна,

научный сотрудник;

Еникеева Зульфия Махмудовна,

доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник;

Ибрагимов Адил Ахмедович,

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник;

Абдирова Арзайим Чаржановна,

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник;

Амонов Анвар Илхомович,

младший научный сотрудник;

Саидходжаева Саида Саидакбаровна,

младший научный сотрудник;

Тилляшайхов Мирзагалиб Нигматович,

доктор медицинских наук, профессор, руководитель гранта, директор

Республиканский специализированный

научно-практический медицинский центр онкологии и радиологии

Аннотация. На основе алкалоида колхицина созданы новые противоопухолевые препараты К-26 и К-26-в, которые необходимо было изучить на животных с перевивными опухолями в сравнении с коммерческими препаратами таксолом, винкристином и этопозидом, а также ранее разработанными производными колхицина и колхамина К-19 и дэковином. Эксперименты проведены на 60 беспородных мышях с солидной опухолью Эрлиха (СОЭ) и саркомой 180 (С-180) и 32 беспородных крысах с карциносаркомой Уокера (КСУ). Все препараты вводились в терапевтических дозах 8-кратно в/б мышам на 10-й и крысам на 3-й день после перевивки опухоли. Оценку результатов проводили по стандартным критериям. Изучение препаратов К-26 и К-26-в на животных с опухолями выявило их более выраженную активность в сравнении с таксолом, винкристином и этопозидом, активность этих препаратов на 4-10% ниже действия К-19 и дэковина, но вызывают меньшее снижение количества лейкоцитов. Меньший уровень побочных эффектов объясняется большей способностью к индукции КОЕ с препаратом К-26 в сравнении с К-19 и дэковином.

Ключевые слова: перевиваемые опухоли мышей и крыс, саркома 180, солидная опухоль Эрлиха, карциносаркома Уокера, дериваты колхицина К-26-в, К-26, дэковин, К-19, активность, таксол, этопозид.

COMPARISON OF THE ACTIVITY OF THE NEW COLCHICINE DERIVATIVES K-26 AND K-26-W WITH THE ACTIVITY OF TAXOL AND ETOPOSIDE, THE DRUGS DEKOVIN AND K-19

Agzamova Nigora Alimuhamedovna,

Researcher;

Enikeeva Zulfia Makhmudovna,

Doctor of Biological Sciences, Professor, Chief Researcher;

Ibragimov Adil Ahmedovich,

Ph.D. in Biological Sciences, Senior Researcher;

Abdirova Arzayim Charzhanovna,

Ph.D. in Biological Sciences, Senior Researcher;

Amonov Anvar Ilkhomovich,

Junior Researcher;

Saidkhodjaeva Saida Saidakbarovna,

Junior Researcher;

Tillyashaykhov Mirzagalib Nigmatovich,

Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of Grant, Director

Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center of Oncology and Radiology
of the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan

Abstract. New antineoplastic preparations K-26 and K-26-w have been created on a basis of alkaloid colchicines, which were studied in animals with common tumors in comparison with commercial preparations taxol, vincristine and etoposide, and also with earlier developed derivatives colchicine and colchamine K-19 and decovine. The experiments were conducted on 60 outbred mice with Ehrlich's solid tumor and the Sarcoma 180 and in 32 outbred rats with Carcinosarcoma Walker. All drugs are administered in therapeutic doses 8-fold mode on the 10th day and on the 3rd day after tumor subinoculation. Estimated results are obtained according to standard provisions. A study of preparations K-26 and K-26-w in animals with tumors has revealed their more expressed activity compared to taxol, vincristine and etoposide; the activity of these preparations is 4-10% lower than the actions K-19 and dekovine, but causing a decrease in the number of leukocytes. The lower level of side effects is explained by the greater ability to induce K-26 compared to K-19 and dekovine.

Keywords: transplantable tumors of mice and rats, the Sarcoma 180, Ehrlich solid tumor, Carcinosarcoma Walker, colchicine derivatives K-26-w, K-26, decovin, K-19, activity, taxol, etoposide.

Введение

В клинической онкологии широко применяются природные соединения с тубулин-интерактивным действием: алкалоиды винка (винкристин, винбластин), лактон подофиллотоксин, таксоиды (паклитаксел и его полусинтетический аналог доцетаксел); созданы их новые дериваты: полусинтетический навельбин, этопозид, полученный на основе подофиллотоксина [1].

На основе трополонового алкалоида колхицина [2], также обладающего свойством подавлять тубулиновые микротрубочки, разрабатываются новые производные, которые имеют лучший профиль токсичности и высокий терапевтический эффект [3-5].

В РСНПМЦОиР также ведутся разработки новых противоопухолевых препаратов, полученных модификацией колхицина и его природного аналога колхамина [6]. Результаты скрининга, проведенного на панели опухолей человека в Национальном институте рака США (NCI) *in vitro*, показали высокую цитотоксическую активность большого ряда новых производных трополоновых алкалоидов, из них на основании отбора *in vivo* на животных с опухолями отобрано 15 веществ, для которых изучен механизм их цитотоксического действия [6]. Среди проверенных в NCI веществ высокая активность была также у препарата K-26 [7, 8]. Однако K-26 плохо растворим в воде, в этой связи была получена водорастворимая соль этого препарата (K-26-в), которая обладала в 1,75 раза меньшей токсичностью и более выраженной активностью в сравнении с исходным K-26. При разработке новых

противоопухолевых препаратов необходимо провести сравнение с известными противоопухолевыми препаратами, как правило, близкого класса.

Целью настоящей работы было изучение противоопухолевой активности новых производных колхицина K-26 и K-26-в на животных с опухолевыми штаммами саркома 180, солидная опухоль Эрлиха и карциносаркома Уокера в сравнении с препаратами аналогичного тубулининтерактивного действия таксолом и этопозидом, а также с ранее разработанными производными колхицина и колхамина – препаратами дэковином и колхаминолом (K-19).

Модели и методы. Объектом исследования были препараты K-26 и K-26-в, синтезированные из колхицина и разработанные в РСНПМЦОиР [7]. В качестве препаратов сравнения использованы препараты дэковин и колхаминол, также разработанные в РСНПМЦОиР, а также таксол (INTTAXEL, Dabur, Индия), этопозид (Etoposide phosphate, Bristol-Myers Squibb) и винкристин (Гедон Рихтер А.О., Венгрия). Для таксола в литературе была найдена МПД₁₀, равная 12,5 мг/кг [9], которую авторы повторили и уточнили для беспородных мышей (12 мг/кг), для этопозиды была установлена МПД₁₀ 15 мг/кг, с которой проводили эксперименты, винкристин был применен в дозе 0,4 мг/кг, для крыс дозы препаратов взяты в соответствии с межвидовым пересчетом доз [Freireich et al. 1966]. В работе были использованы экспериментальные опухоли: карциносаркома Уокера, солидная опухоль Эрлиха и саркома S 180, полученные из Банка РОНЦ РАМН им. Н.Н. Блохина.

Перевивку опухолей проводили согласно общепринятым методикам: опухоли прививали подкожно взвесью опухолевых клеток по 30-60 мг в 0,3-0,5 мл питательной среды на мышь [10]. Лечение животных начинали через 3-6 дней после имплантации опухоли, препараты вводили внутривентриально ежедневно в течение 4 или 8 суток в максимально переносимых дозах (МПД₁₀), а также в меньших дозах. Животные контрольных групп получали физиологический раствор в дни введения препаратов в адекватном объеме. При оценке противоопухолевого эффекта учитывали массу и объем опухоли. Для изучения динамики опухолевого роста у животных леченных и контрольной группы измеряли опухоли в 3-х проекциях, в начале опыта и затем каждые 5 дней. Торможение роста опухоли вычисляли по формулам [10] по объему (V) и массе (M) извлеченной опухоли. До введения и в конце опыта определяли массу тела животных, о переносимости лечения судили по гибели мышей, определяли массу селезенки.

Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica, версия 6.0. За уровень статистической значимости принимали $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Задачей настоящего исследования является сравнение противоопухолевой активности нового вещества К-26, проявившего высокую активность *in vitro* в NCI, и его водорастворимого аналога К-26-в на животных с 3 опухолями с известными препаратами аналогичного механизма действия, а также ранее разработанными препаратами дэковином и колхамином (К-19).

Введение препаратов начали через 10 дней после перевивки (табл. 1), препараты вводили 8-кратно внутривентриально в объеме 0,3 мл на 20 г массы мыши, забой животных был осуществлен на 5-й день после последнего введения препарата из-за гибели животных в контрольной группе.

При изучении противоопухолевой активности на штамме саркома 180 были использованы следующие разовые дозы препаратов: 32 мг/кг К-26-в (суммарная доза – 256 мг/кг), 22 мг/кг К-26 (суммарная доза – 176 мг/кг). К-26 и К-26-в сравнивались с действием таксола в дозе 12 мг/кг и винкристина в дозе 0,4 мг/кг.

В данном опыте препарат К-26-в подавлял рост опухолей С-180 на 97/95% при 75% ремиссий (табл. 1), К-26 подавлял рост этой

Таблица 1

Противоопухолевая активность препаратов К-26-в, К-26, таксола и винкристина на штамме саркома-180

Группы животных и дозы (мг/кг)	Падеж животных, %	Масса животных до опыта, г	Масса животных после опыта, г	Объем опухоли, (ахххс) см		Масса опухоли, г	Масса селезенки, г	% ТРО v/m	% ремиссий
				10-день	23-день				
1. контроль	20	27,0±2,04	24,8±6,5	1,1±0,1	2,4±1,2	2,0±0,48	0,3±0,05		
2. К-26-в 32 мг/кг		22,0±0,37	26,0±0,49	0,7±0,4	0,08±0,007*	0,5±0,06*	0,42±0,13	97/95	75
3. К-26 22 мг/кг		20,0±1,8	25±0,9	1,0±0,4	0,2±0,02*	0,5±0,12*	0,35±0,06	92/90	25
4. таксол 12 мг/кг		24,69±0,9	30±6	1,2±0,3	0,3±0,03*	0,28±0,1	0,3±0,13	88/89	50
5. винкрис-тин 0,4 мг/кг	20	22,3±1,7	23,8±2,3	1,0±0,5	0,8±0,4	0,6±0,2	0,25±0,06	67/70	

*Примечание: лечение с 10 дня перевивки опухоли, 8 введений веществ; в группах лечения n=6, в контроле n=6; * – различия статистически достоверны в сравнении с контролем при $P < 0,05$.

Таблица 2

Противоопухолевая активность препаратов К-26 и К-26-в на штамме карциносаркома Уокера в сравнении с этопозидом и таксолом

Группы животных, препарат, разовая доза (мг/кг)	Гибель, %	Масса животных (г)		Объем опухоли (см ³)		Масса опухоли, г	Масса селезенки, мг	% торможения	
		до опыта	после опыта	5-день	19-день			по объему	по массе
1. контроль	0	100,0 +3,5	104,5+6,0	1,8+0,4	13,0+2,4	13,0+0,8	0,6+0,08		
2. К-26 (6)	0	85,0+8,7	85,0+7,2	0,5 +0,3	0,3+0,08*	0,5+0,08*	0,4+0,05	98	96
3. К-26-в (12)	0	104,0+6,0	98,5+3,2	0,3+0,1	0,2+0,06*	0,4+0,03*	0,5+0,02	98	97
4.этопозид (7)	33	110,0+2,5	122,0+10,1	0,4+0,13	10,6+2,2*	8,9+1,4*	1,0+0,03	15	34
5. таксол (5,5)	50	105,3+ 2,9	97,0+3,0	0,08+0,02	0,8+0,5	1,1 +0,7	0,4+ 0,1	94	92

Примечание: лечение с 3 дня перевивки опухоли, 8 введений веществ; в группах лечения n=6, в контроле n=8; * – различия статистически достоверны в сравнении с контролем при $P < 0,05$.

опухоли на 92/90% при 25% ремиссий. Таксол был менее активен и подавлял рост опухоли С-180 на 88/89%, однако вызывал 50% ремиссий, винкристин подавлял рост опухоли на 67/70%, причем в этой группе наблюдалась гибель животных (20%).

В контрольной и опытных группах не было снижения массы тела. Селезенки в опытных группах были выше или на уровне контрольной группы, кроме группы с винкристином, где селезенки были меньше на 17%.

Полученная эффективность от 8-кратного применения К-26 и К-26-в при воздействии на развившиеся опухоли в изученных дозах выше действия таксола и винкристина, однако действие таксола сопровождалось 50% ремиссий.

Также изучалась противоопухолевая активность К-26 и К-26-в в сравнении с этопозидом и таксолом на крысах на штамме карциносаркома Уокера (КСУ) в дозах 6 мг/кг (К-26), 12 мг/кг (К-26-в), 7 мг/кг (этопозид) и 5,5 мг/кг (таксол). Введение препаратов начали через 3 дня после перевивки (табл. 2), препараты вводили 8-кратно внутрибрюшинно в дозе 0,3 мл на 100 г массы крысы, забой животных был осуществлен на 7-й день после последнего введения препарата. Гибель животных отмечена в группах 4 и 5 с применением этопозид (33%) и таксола (50%).

В данном опыте (табл. 2) препарат К-26 в

дозе 6 мг/кг подавлял рост опухолей КСУ на 98/96%, К-26-в в дозе 12 мг/кг подавлял рост этой опухоли на 98/97%, у этопозид (33%) была низкая активность – 15/34%, а у таксола – 94/92%.

В контрольной группе было незначительное снижение массы тела на 8,7%, в опытных группах снижение массы тела наблюдалось в группе с применением таксола. Селезенка в опытной группе с К-26 была на уровне контрольной группы, а в группе с К-26-в выше уровня контрольной группы на 60%. Отмечено резкое увеличение селезенки при воздействии этопозид.

При изучении противоопухолевой активности на мышцах с солидной опухолью Эрлиха препараты К-26 и К-26-в были использованы в тех же дозах (22 и 32 мг/кг), колхаминол (К-19) в дозе 40 мг/кг для 8-кратного введения (суммарная доза – 320 мг/кг) и дэковин в дозе 50 мг/кг для 4-кратного введения (суммарная доза – 200 мг/кг). Известно [11], что дэковин проявляет более высокую активность при 4-5-кратном введении.

Введение препаратов начали через 10 дней после перевивки (табл. 3), препараты вводили 8-кратно внутрибрюшинно в объеме 0,3 мл на 20 г массы мыши, забой животных был осуществлен на 9-й день после последнего введения препарата.

В данном опыте гибель животных в опыт-

Таблица 3

Действие препаратов К-26, К-26-в, дэковина и К-19 на штамме солидная опухоль Эрлиха (СОЭ)

Группы животных, доза, мг/кг	Животных/падеж	Масса животных, г		Объем опухоли, см ³			Масса опухоли, г	Масса селезенки, мг	% торможения		Лейкоциты
		до опыта	после опыта	10-день	15-день	29-день				% ремиссий	
1. контроль	10/1	21+0,8	23+2,8	1,0+0,2	2,4+0,3	4,8+0,9	4,1+0,8	0,4+0,03			10,2+1,2
2. К-26 (22)	8/0	22+0,2	23+0,4	1,3+0,2	0,8+0,3	0,5+0,2*	0,4+0,1	0,4+0,2	90/90	62	8,7+1,9
3. К-26-в (32)	8/0	21+0,9	24+0,9	0,9+0,2	0,5+0,1	0,2+0,07*	0,2+0,06*	0,4+0,03	96/95	38	7,3+0,5
4. К-19 (40)	8/0	20+0,5	23+0,4	1,1+0,4	0,1+0,01	0,025+0,016*	0,04+0,01*	0,4+0,04	100/99	75	7,0+1,6
5. Дэковин (50) 4-кратно	8/0	21+0,9	23+1,1	0,8+0,2	0,4+0,1	0,09+0,06	0,07+0,02*	0,4+0,04	98//98	50	6,3+0,4

Примечание: лечение с 10-го дня перевивки опухоли, 8 введений веществ; в группах лечения n=8, в контроле n=10; * – различия статистически достоверны в сравнении с контролем при P < 0,05.

ных группах не наблюдалась. Препарат К-26 в дозе 22 мг/кг подавлял рост опухолей С-180 на 90/90% при 62% ремиссий, К-26-в в дозе 32 мг/кг подавлял рост этой опухоли на 96/95% при 38% ремиссий. К-19 был более активен и подавлял рост опухоли СОЭ на 100/99% при 75% ремиссий, дэковин подавлял рост опухоли на 98/98% при 50% ремиссий.

В контрольной и опытных группах не было снижения массы тела. Селезенка в опытных группах была на уровне контрольной группы. Однако К-26 и К-26-в менее резко снижают уровень лейкоцитов, чем К-19 и дэковин.

Полученная эффективность от 8-кратного применения К-26 и К-26-в в изученных дозах на 4-10% ниже действия К-19 и дэковина, однако их действие также сопровождалось большим (38-62%) количеством ремиссий.

Выводы

При разработке новых противоопухолевых препаратов необходимо провести сравнение с известными противоопухолевыми препаратами, как правило, близкого класса.

Из полученных результатов на 3-х штаммах опухолей следует, что на опухоли саркома 180 препараты К-26 и К-26-в более активны, чем таксол, винкристин, на штамме КСУ

– чем таксол и этопозид, однако их активность на СОЭ на 4-10% ниже действия К-19 и дэковина. Единственным преимуществом К-26 в сравнении с К-19 и дэковином является менее значительное снижение уровня лейкоцитов.

Ранее было показано, что производные трополоновых алкалоидов являются индукторами колониестимулирующего фактора на одном из этапов дифференцировки стволовых клеток [6]. При изучении способности производных трополоновых алкалоидов к стимуляции КОЕс было показано [6], что они вызывают в терапевтических дозах следующее увеличение КОЕс: дэковин – 5, К-19 – 6, К-26 – 10,5 ед. КОЕс, т.е. в приведенном ряду К-26 обладает более выраженной способностью к стимуляции КОЕс, что объясняет его меньшее влияние на снижение гемопоэтических показателей. Вероятно, что производные трополоновых алкалоидов, увеличивающие выход колониобразующих единиц в селезенке, способствуют и их дифференцировке из незрелых предшественников.

Таким образом, изучение новых препаратов К-26 и К-26-в выявило их преимущества с известными противоопухолевыми препаратами близкого тубулинин-тераптического класса,

такими как таксол, винкристин и этопозид, так и в сравнении с действием К-19 и дэковина, которые получены из трополоновых алкалоидов.

Работа выполнена при финансовой поддержке фонда прикладных исследований Республики Узбекистан (проект № ПЗ-201709069).

Источники и литература

1. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / Под ред. Н.И. Переводчиковой. – М., 2013. – 511 с.
2. Балицкий К.П., Воронина А.А. Лекарственные растения в терапии злокачественных опухолей. Ростов-на Дону: из-во Ростовского унив., 1976. – С. 66-136.
3. Bombardelli E. Colchicine-skeleton Compounds, Their Use as Medicaments and Compositions Containing Them. // US Pat. 6.080.739, 2000.
4. Bombardelli E., Gabetta B. Colchicine Derivatives and the Therapeutically // Use Thereof. US Pat. 5.843.910, 1998.
5. Qian Shi, Ke Chen, Susan L. Morris-Natschke and Kuo-Hsiung Lee. Recent Progress in the Development of Tubulin Inhibitors As Antimitotic Antitumor Agents. // Current-Pharmaceutical Design. – 1998. – No 4. – Pp. 219-248.
6. Еникеева З.М., Ибрагимов А.А. Новый класс цитостатиков со стимуляцией колониеобразующих единиц на селезенке (КОЕс). –Т.: Fan va texnologiya, 2016. – 173 с.
7. Еникеева З.М. Кузнецова Н.Н., Димант И.Н., Бегишева А.И., Султанова Д.Ш. 10-дезметокси-10-(N,N-бис(2-гидроксиэтил)амино)-7-(N-дезацетил) колхицин, обладающий цитостатическим действием на клетки поджелудочной железы человека и антимитотическим эффектом. Патент [UZC] 951,2003.
8. Еникеева З.М., Ибрагимов А.А., Юсупова А.А., Фузаилова Т.М., Абдирова А.Ч. Изучение противоопухолевой активности новых производных колхицина К-26, К-60 и К-61 в сравнении с таксолом и этопозидом // Журнал теоретической и клинической медицины. – 2015. – №1. – С. 23-26.
9. Riodel J., Jatrot M., Picot M., Berieel H., et. al. Therapeutic response to taxol of six human tumors xenografted into nude mice // Cancer Chemothera. And Pharmacol. – 1986. – V.17. – №2. – Pp. 137-142.
10. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. А.Н. Миронова. – М., 2012. – С. 640-654.
11. Гафур-Ахунов М.А, Гойибова С.К., Агзамова Н.А., Холиков Т.К., Еникеева З.М. Противоопухолевая активность и переносимость водорастворимого дэковина в сравнении с его основанием дэкоцином // Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. – Москва, 2011. – № 2. – С. 61-65.

Рецензент:

Абдувалиев А.А., кандидат биологических наук, Ташкентская медицинская академия.